

燈籠花種子休眠與發芽

楊颺¹ 陳舜英² 楊國禎³ 簡慶德^{4*}

(收件日期：民國103年3月31日、接受日期：民國103年6月19日)

【摘要】燈籠花為臺灣原生種冬青科落葉灌木，其種子具休眠性。本文旨在探討燈籠花種子發芽促進方法與休眠性。將採自陽明山、楊梅及來義三處燈籠花天然族群的種子，進行發芽試驗，包含各種不同的溫度處理、連續溫度變化處理、低溫5°C層積處理及不同濃度之激勸素GA₃和GA₄處理，並調查種子胚發育生長。試驗結果顯示，最終發芽率在不同採集地及不同發芽溫度下有顯著差異，但發芽率皆以20/10°C處理最高，然需要12週後才開始發芽。25-2500 μM激勸素GA₃及GA₄皆可促進種子發芽，採集自楊梅及來義的種子之最適GAs處理濃度分別為250及2500 μM。低溫5°C層積處理可加速燈籠花種子發芽，然仍需配合較低的發芽溫度，例如20/10°C。結論是燈籠花種子胚小，胚在種子內生長時間長達10週以上，且受到發芽溫度的影響，具淺度的形態生理休眠。建議秋天採收燈籠花種子後，應先以低溫層積儲藏，至翌年初春再播種。

【關鍵字】低溫層積、激勸素、燈籠花、形態生理休眠、種子發芽、發育未完全胚

SEED DORMANCY AND GERMINATION OF *ILEX ASPRELLA*

Yang Yang¹ Shun-Ying Chen² Guo-Jhen Yang³ Ching-Te Chien^{4*}

(Received: March 31, 2014; Accepted: June 19, 2014)

【Abstract】 *Ilex asprella* whose seeds have dormancy is a native deciduous shrub in Taiwan. Germination promotion and dormancy characterization of *Ilex asprella* seeds were studied. Seeds from three sites, Yang Mei, Lai Yi, and Yang Ming Shan were collected and tested germination. Seeds treatments included different incubation temperatures, temperature sequence from-warm-to-cold or from-cold-to-warm incubation, cold stratification at 5°C, and different concentrations

¹ 行政院農業委員會臺南區農業改良場作物改良課助理研究員，71246臺南市新化區牧場70號。

Assistant Researcher, Division of Crop Improvement, Tainan District Agriculture Research and Extension Station, 70, Muchang Road, Sin-Hua District, Tainan 71246, Taiwan.

² 行政院農業委員會林業試驗所育林組助理研究員，10066臺北市中正區南海路53號。

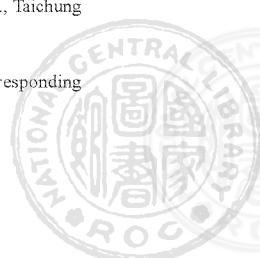
Assistant Researcher, Division of Silviculture, Taiwan Forestry Research Institute, 53, Nan-Hai Road, Taipei 10066, Taiwan.

³ 靜宜大學生態人文學系副教授，43301台中市沙鹿區中樓路200號。

Associate Professor, Department of Ecological Humanities, Providence University, 200, Sec. 7, Taiwan Boulevard, Shalu Dist., Taichung City 43301, Taiwan.

^{4*} 行政院農業委員會林業試驗所育林組研究員，10066臺北市中正區南海路53號。通訊作者。

Researcher, Division of Silviculture, Taiwan Forestry Research Institute, 53, Nan-Hai Road, Taipei 10066, Taiwan. Corresponding Author. E-mail : chien@tfri.gov.tw



of GA₃ and GA₄. Embryo and seed length were investigated. We found that the suitable temperature for seed germination was at 20/10°C, and the final germination percentage and rate showed significance difference under different incubation temperatures and seed collection sites. Germination percentage of fresh seeds at 20/10°C was the highest, but seeds required 12 weeks for beginning to germinate. Seeds treated with 25-2500 μM GA₃ and GA₄ promoted germination and the suitable GA concentrations to seeds of Yang-Mei and Lai-Yi were 250 and 2500 μM of GA₃ and GA₄, respectively. Cold stratification at 5°C shortened germination time, but required combining low sowing temperature, e.g. 20/10°C. In conclusion, small embryo in seed of *Ilex asprella* was found and embryo growth in seed required greater than 10 weeks before seed germination. Thus, seeds of *Ilex asprella* have a nondeep morphophysiological dormancy. We suggest that seeds collected in autumn were pretreated by cold stratification until next early spring for sowing.

[Key Words] Cold stratification, Gibberellins, *Ilex asprella*, Morphophysiological dormancy, Seed germination, Underdeveloped embryo

I、前言

冬青屬(*Ilex*)是冬青科(Aquifoliaceae)中最主要的屬，約有400種，普遍分布於溫帶、熱帶及亞熱帶地區(Mabberley, 2008)。大部份冬青屬為常綠灌木或喬木，少部分為落葉性。在美國最常見的冬青屬植物為葉緣帶刺的*I. opaca*，在歐洲和地中海地區則為葉緣無刺的*I. aquifolium*。冬青屬演化上被認為是較早出現於地球，從化石的花粉發現，最早可追溯到中生代的白堊紀(Cretaceous)，到了新生代第三紀開始的古新世(Paleocene，距今六千萬年前)，冬青科植物已遍布全世界，直到現在亞洲和美洲各地仍廣泛分布(Muller, 1981; APG III, 2009)。

冬青屬種子具休眠性，不同樹種種子的休眠程度深淺不同(Hu, 1975; 簡慶德、陳舜英, 2011)。Baskin and Baskin (2004)將種子休眠分為五類：生理休眠(physiological dormancy)，形態休眠

(morphological dormancy)，形態生理休眠(morphophysiological dormancy)，結構休眠(physical dormancy)，結構和生理組合休眠(combinational dormancy)。其中形態生理休眠的種子，胚小發育未完全(underdeveloped embryo)，且種子發芽時間長，需要30天以上，主因是胚沒有足夠的生長潛力突破覆蓋物，如胚乳、種皮、果皮等(Baskin and Baskin, 1998)。形態休眠的種子除胚小外，發芽所需時間較短，可在30天內完成發芽。打破種子形態生理的休眠，需要進行低溫層積、暖溫層積、暖低溫組合層積，或配合植物荷爾蒙激勃素(gibberellins)處理(Baskin and Baskin, 1998)。

臺灣冬青科植物的分類群只有冬青屬一屬，該屬有23種(Lu, 1993)，其中燈稱花(*Ilex asprella* (Hook. & Arn.) Champ.)為臺灣原生的落葉性灌木，成熟的植株高可達3 m以上，然近年來由於過度人為採集，在野外已鮮少見到大型老株。燈稱花常見於台灣北部與南部低海拔常綠闊葉林中，能耐



陰，依據野外實際觀察，偶而會成為森林建構過程中早期出現的次生先驅植物，喜歡生長在排水良好砂質壤土的環境。在種類繁多的植物當中、以常綠為主的冬青科植物，其冬天落葉型態顯得非常的獨特。燈籠花枝條細瘦，層狀平展而顏色深綠，接近圓形的葉子細小而薄，在枝條兩側平展排列，落葉前轉變成黃色；春天展葉時開花，雌雄異株，花小，白色，整排著生於葉腋，花柄長而下垂；果實小，成熟時呈黑色，漿果。整體來說，燈籠花優雅細緻，是非常有潛力的景觀植物。燈籠花葉子天然成分中發現的三萜類化合物asprellic acids能抑制腫瘤細胞(Kashiwada and Zhang, 1993; Li et al., 2004)。燈籠花以種子繁殖為主，但種子具休眠性，發芽不易，故難以大量繁殖。有關燈籠花種子休眠與發芽機制之相關研究文獻闕如，因此本研究旨在探討燈籠花種子休眠機制，找出促進其發芽的方法，相信研究結果在本樹種復育及園藝應用上應有很大的助益。

II、材料與方法

(I) 果實採集與處理

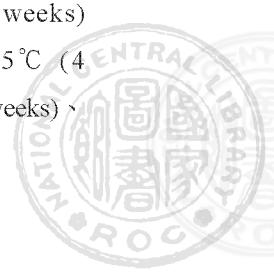
燈籠花果實採集自台北陽明山2010年8月9日)、桃園楊梅(2010年7月9日)和屏東來義(2010年7月10日)等三個族群，每個族群採3株或以上，並將果實混合。成熟的果實呈黑色，將果皮與果肉洗除，並且去除浮於水面的種子，將沉水的種子放置室內陰乾2日，然後裝入封口塑膠袋，冷藏於5°C備用。

(II) 種子基本資料測定

1. 種子大小測量：每個族群隨機取20粒種子，用游標尺測量其長、寬和厚度，單位mm。
2. 種子含水率測定：新鮮種子秤重(鮮重)後在103°C溫度下烘乾17小時，然後再秤重(乾重)，共4重複，每重複20粒種子。種子含水率(%)=(種子鮮重-種子乾重)/種子鮮重×100。

(III) 新鮮種子發芽試驗

1. 定溫25°C處理：逢機取種子150粒，每重複50粒，3重複，與攪碎的水苔混合，裝入透明封口袋中，置於25°C發芽箱發芽，每星期檢查一次，將發芽種子挑出，並記錄發芽種子粒數。
2. 變溫處理：逢機取出種子，與攪碎的水苔(sphagnum moss)混合，裝入透明封口袋中，然後分別置於30/20°C、25/15°C、20/10°C、15/6°C、35/10°C發芽箱中，採集自陽明山的種子由於數量較少故沒作35/10°C處理。每個處理3重複，每重複50粒，共計750粒。每星期檢查一次，將發芽種子挑出，並記錄發芽種子粒數。
3. 變溫組合層積處理對燈籠花種子發芽之影響
暖溫至低溫連續溫度變化處理，即模擬氣溫變化，種子在夏天開始播種，接著秋天、冬天及翌年春天等；低溫至暖溫連續溫度變化處理，即種子在冬天開始播種，接著春天、夏天、秋天等。
(1) 暖溫開始(夏天週期)：25/15°C (12 weeks) → 20/10°C (8 weeks) → 15/6°C (4 weeks) → 5°C (4 weeks)，然後回到15/6°C (weeks)、



20/10°C (8 weeks)、25/15°C (12 weeks)，如果沒有發芽或發芽情況不佳，繼續進行此連續溫度變化。

3重複，每重複50粒，調查方式同前。

- (2) 低溫開始(冬天週期)：5°C (4 weeks) → 15/6°C (4 weeks) → 20/10°C (8 weeks) → 25/15°C (12 weeks)，然後回到20/10°C、15/6°C、5°C，如果沒有發芽或發芽情況不佳，繼續進行此連續溫度變化。3重複，每重複50粒，每星期檢查一次，將發芽種子挑出，並記錄發芽種子粒數。

以上種子發芽試驗所使用的介質是水苔，水苔使用前先浸水二小時，用手擰乾水苔，再用水浸洗二次，同時去除雜質，最後擰乾水苔後用絞肉機切碎，放入容器備用。

(IV) 胚生長觀察

過去研究冬青屬種子，如倒卵葉冬青(*Ilex maximowicziana*)胚小胚乳多，在胚根突破種皮之前，胚必須在種子內發育生長(Chien et al., 2011)。採自桃園楊梅燈稱花種子置放於25/15°C及15/6°C下發芽，每兩星期分別取10粒種子，在解剖顯微鏡(Zeiss Stemi 2000-C with digital Canon camera)下切開觀察胚生長發育情形，並用微尺測量種子及胚長度，同時拍照。

(V) 低溫5°C層積處理對燈稱花種子發芽效應

逢機取試驗種子與濕水苔放入有封口的PE袋內，混合均勻，然後放進5°C層積。低溫層積處理時間4、8、12、16和20

星期。每個處理3重複，每重複50粒。種子層積後之發芽溫度為20/10°C、25/15°C和30/20°C。調查方式同(III)。

(VI) 激勃素(gibberellins, GAs) GA₃和GA₄

處理對新鮮燈稱花種子發芽之影響

分別取楊梅和來義種子150粒，將其浸泡於激勃素GA₃及GA₄中24小時，濃度分別為2500、250、25和對照組0 μM(蒸餾水)，之後將表面略微擦乾，分為3重複，每重複50粒，放入封口袋，與濕水苔混合均勻，置於20/10°C下觀察發芽情形。調查方式同前。

(VII) 試驗設計與統計分析

試驗皆採完全隨機試驗設計(completely randomized design, CRD)，以CoStat 6.4統計軟體進行最小顯著差異(least significant difference, LSD)，分析各處理間有無顯著差異($P < 0.05$)，百分比數據均先進行角度轉換(arcsine square root-transformed)後再進行統計分析，並以Sigma Plot 10.0軟體作圖。

III、結果

(I) 溫度處理對新鮮種子發芽之影響

採集自楊梅、來義、陽明山三個燈稱花族群的種子，在定溫25°C下放置52週後幾乎不發芽(數據未呈現)。採自楊梅的種子在30/20、25/15、20/10、15/6、35/10°C溫度下皆可發芽，又以20/10和25/15°C發芽率最高，52週後分別可達約80%及75%；15/6和35/10°C發芽率約為50-60%，30/20°C的發芽率最低在10%以下(圖1A)。種子發芽速度則以20/10和15/6°C最快，均在10週後即開始發芽(圖1A)。

採自來義的燈稱花種子在5種溫度下放



置52週後，發芽率同樣也以20/10和25/15°C較高(55及50%)，而15/6和35/10°C發芽率45%次之，30/20°C發芽率只有35%是各處理中最低的(圖1B)。發芽速度也以20/10°C處理最快，在13週後開始發芽(圖1B)。採

自陽明山的燈籠花種子發芽率以20/10°C最高，可達90%，15/6°C次之(80%)，25/15°C的發芽率遠低於前二者只有20%，30/20°C溫度則幾乎不發芽(圖1C)。

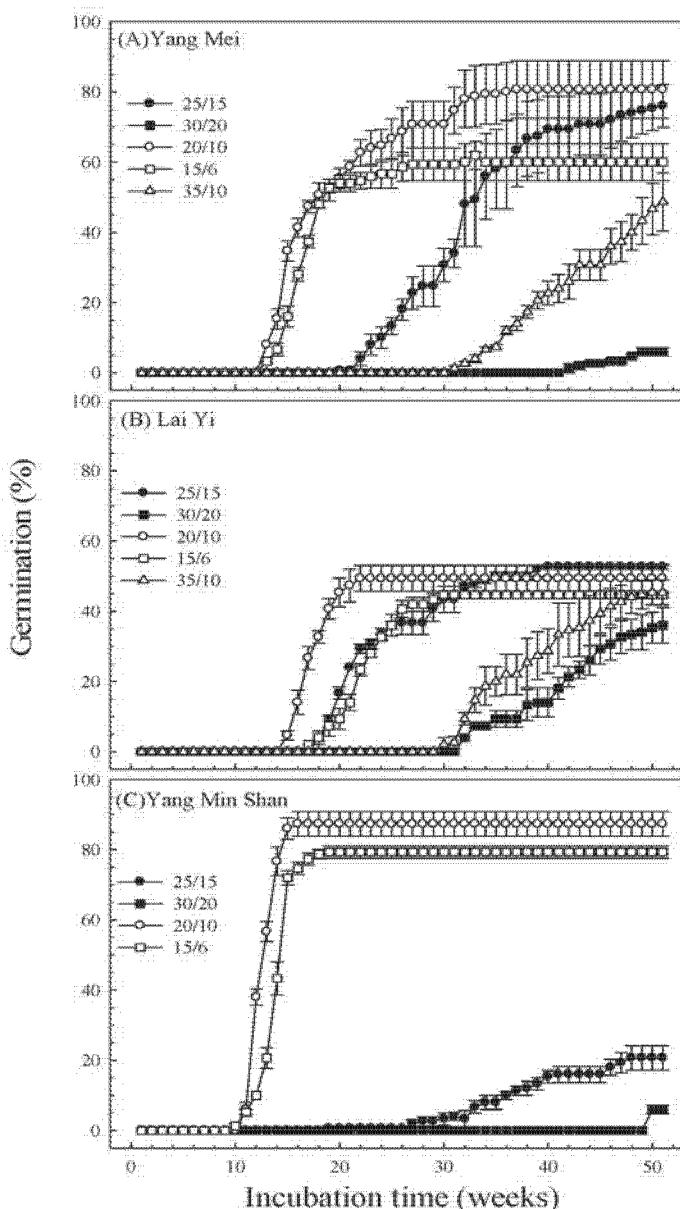


圖1 溫度對採自楊梅(A)、來義(B)、陽明山(C)燈籠花種子發芽之影響

Fig. 1 Effect of incubation temperatures on germination percentages of *Ilex asprella* seeds collected from Yang Mei (A), Lai Yi (B), and Yang Ming Shan (C)



以上三個採集地點與4種處理溫度($30/20$ 、 $25/15$ 、 $20/10$ 、 $15/6^{\circ}\text{C}$)，以複因子統計分析，結果顯示採集地點對最終發芽

率有極顯著差異，處理溫度亦對最終發芽率有極顯著差異，且採集地點與處理溫度間具有交感作用(表1)。

表1 以複因子變方分析採集地點與發芽溫度對燈稱花種子最終發芽率之影響

Table 1 Results of two-way ANOVAs showing the effects of seed collection site and incubation temperature on final germination percentage of *Ilex asprella* seeds

Source of variation	Germination percentage			
	df	F	Significance	R ²
Site	2	7.1	**	
Temperature	3	114.1	***	
Site × Temperature	6	34.4	***	0.9592

R² is the proportion of variation explained by variables

註：決定系數R²是迴歸經由變數可解釋變異量比

Site × Temperature represents the interaction and the germination data are from $30/20$, $25/15$, $20/10$ and $15/6^{\circ}\text{C}$.

採集地點×處理溫度表示二者的交感作用，種子發芽數據取自 $30/20$ 、 $25/15$ 、 $20/10$ 和 $15/6^{\circ}\text{C}$ 。

** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

機率 <0.01 以下表示差異極顯著

(II) 胚生長觀察

從胚生長可瞭解種子發芽速度。每兩星期取自 $25/15^{\circ}\text{C}$ 及 $15/6^{\circ}\text{C}$ 處理下的種子，觀察胚生長發育情形，可看到種子內具有一橢圓形胚，胚長度不到種子長度的 $1/10$ ，其比值為0.071。到試驗第6週， $15/6^{\circ}\text{C}$ 處理的種子胚開始發育生長，其胚長度與種子長度比值顯著高於 $25/15^{\circ}\text{C}$ 處理(圖2)，試驗開始後第10週， $15/6^{\circ}\text{C}$ 處理的種子胚已明顯增長，此時胚長度和種子長度比值約為0.4，而在 $25/15^{\circ}\text{C}$ 處理下，第10週種子胚的大小與第一週變化相差不大。由圖3顯示，燈稱花胚在種子內生長，以 $15/6^{\circ}\text{C}$ 較 $25/15^{\circ}\text{C}$ 快，即種子發芽速率在 $15/6^{\circ}\text{C}$ 較快。

(III) 變溫組合層積處理對燈稱花種子發芽之影響

採集自楊梅的種子經由暖溫至低溫，或由低溫至暖溫兩種變溫組合層積處理

50週後，發芽率皆分別達到75%和70%(圖4)。二處理的種子分別在試驗第11週和第13週發芽，唯暖溫至低溫處理的種子在試驗後第30週才開始大量發芽(圖4A)，而低溫至暖溫處理的發芽率則呈穩定直線上升(圖4B)，顯示種子在較低溫度下較容易發芽(圖4)。

(IV) 低溫 5°C 層積處理對燈稱花種子發芽效應

經 5°C 低溫層積處理的種子，在 $20/10^{\circ}\text{C}$ 溫度下發芽，其發芽率和發芽速率皆比無低溫層積種子高；在 $25/15^{\circ}\text{C}$ 和 $30/20^{\circ}\text{C}$ 的發芽溫度下，須經較長時間層積，如層積20週後皆可於2週內開始發芽，且發芽率顯著提高(圖5)。整體來說， 5°C 層積處理可加速燈稱花種子發芽，層積時間越久發芽率越高，但發芽溫度仍以 $20/10^{\circ}\text{C}$ 最佳。



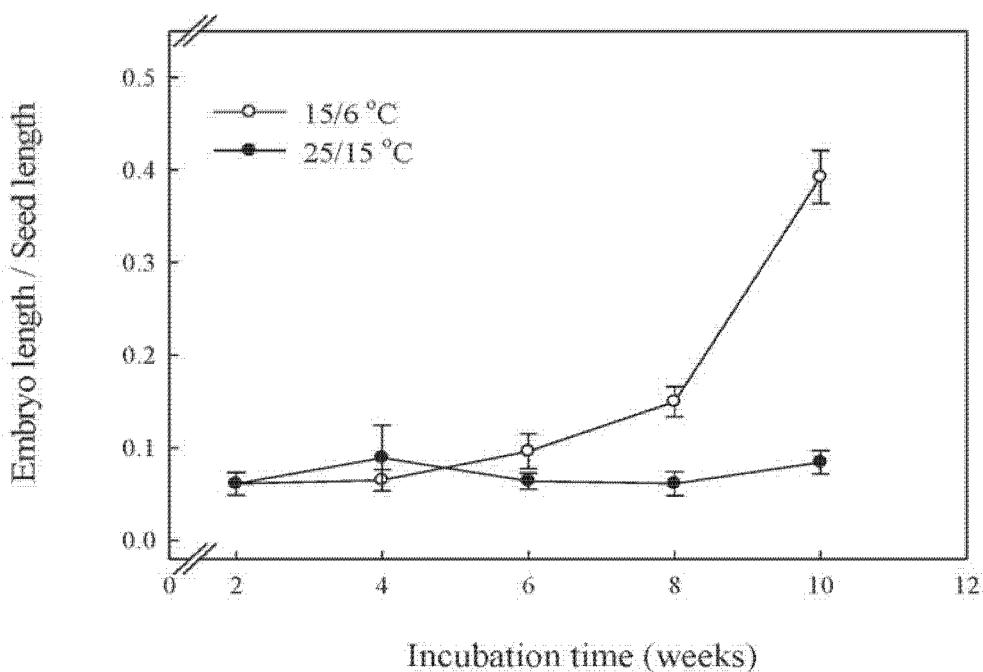


圖2 採自楊梅的燈籠花種子於25/15°C和15/6°C處理下在10週內的胚長度/種子長度比值變化

Fig. 2 Variation of ratio of embryo length and seed length in *Ilex asprella* seeds from Yang-Mei at 25/15°C and 15/6°C incubation for 10 weeks

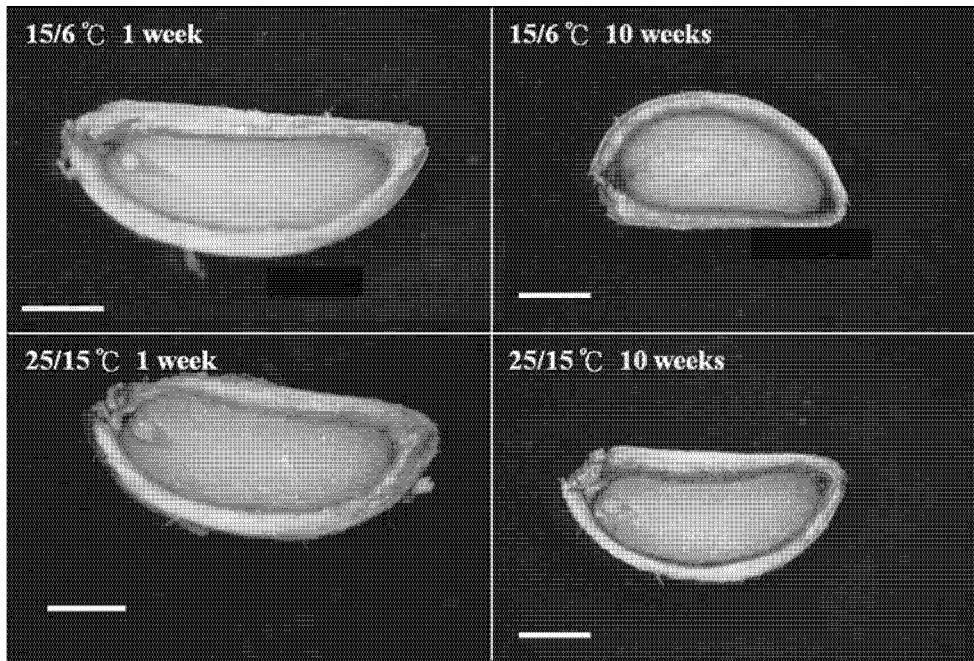


圖3 燈籠花種子在25/15°C與15/6°C下1週與10週之胚發育生長

Fig. 3 Embryo growth in the *Ilex asprella* seeds incubated at 25/15°C and 15/6°C for 1 and 10 weeks

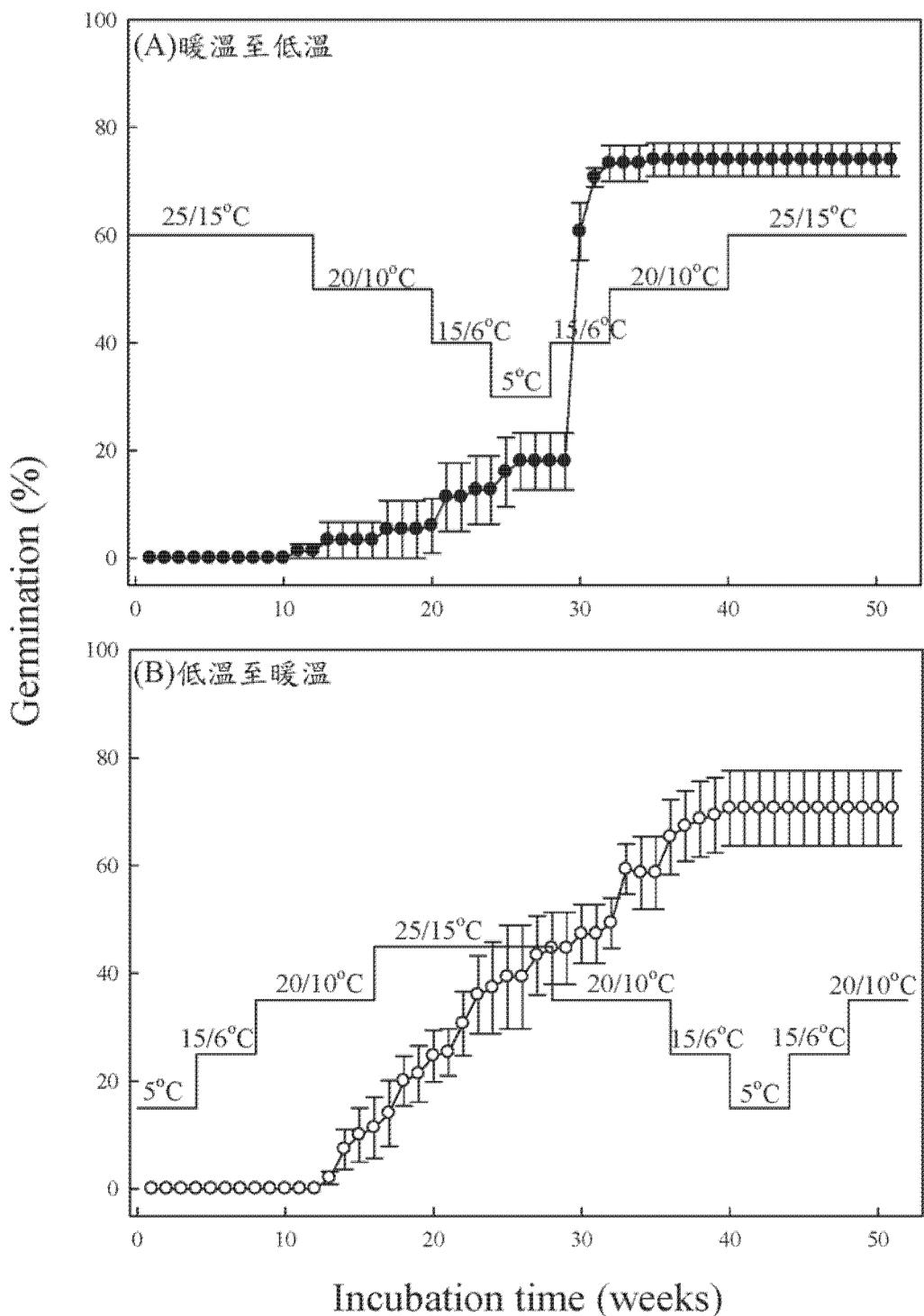


圖4 暖溫至低溫(A)或低溫至暖溫(B)之變溫組合層積處理對採自楊梅的燈稱花種子發芽之影響

Fig. 4 Effect of warm to cold (A) and cold to warm (B) temperature sequences on seed germination percentages of *Ilex asprella* seeds collected from Yang Mei site

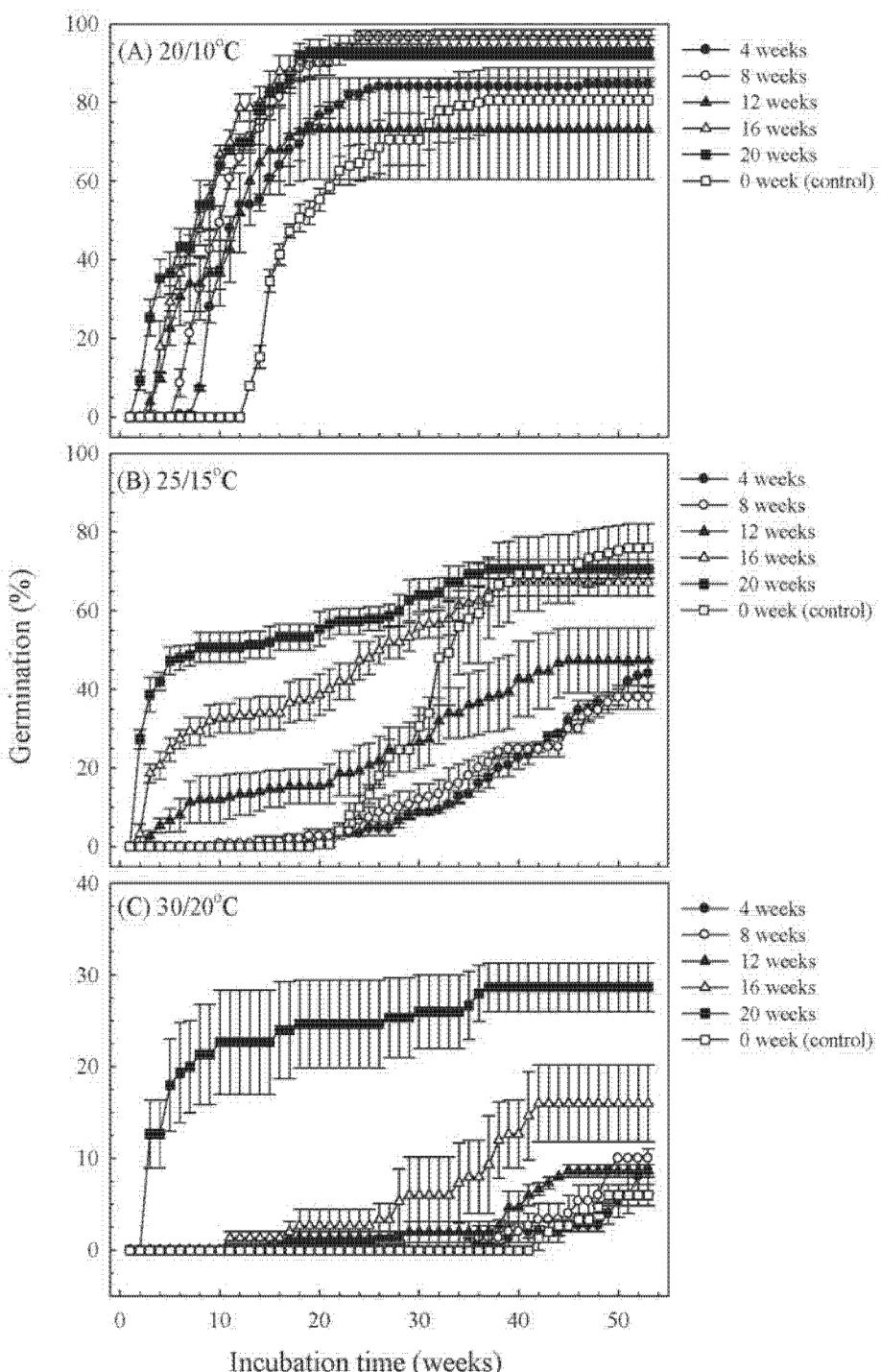


圖5 低溫5°C層積週數對採自楊梅的燈籠花種子發芽之影響

Fig. 5 Effect of cold stratification weeks at 5°C on seed germination percentages of *Ilex asprella* seeds collected from Yang Mei site



(V) 激勃素GA₃和GA₄處理對新鮮燈稱花種子發芽之影響

採集自楊梅及來義的種子經GA₃與GA₄浸泡24小時後，置於20/10°C下發芽，結果顯示採自楊梅的種子在第8週時只有2500及250 μM GA₄處理有少量種子發芽，與其他處理及對照組比較無顯著差異；第16週發芽率以2500 μM GA₄處理最高，其次是250及25 μM GA₄與2500 μM GA₃，低濃度GA₃處理與對照組最低(表2)。同樣地，第24及32週發芽率仍以2500 μM GA₄處理最高，對照組顯著最低。統計結果顯示，GA濃度對燈稱花種子發芽率有極顯著差異，2500 μM處理促進種子發芽的效果優於250及25

μM，但激勃素GA種類(GA₃、GA₄)只有在第16週有極顯著差異，第24週和32週差異皆不顯著，且激勃素種類和濃度間無顯著交感作用(表2)。

採自來義的燈稱花種子在第16週後GA₃與GA₄處理間發芽率差異不顯著，第24週後的種子發芽率以激勃素處理皆高於對照組(表3)。統計結果顯示，激勃素GA濃度對來義種子的發芽率有極顯著影響，激勃素種類影響較小，激勃素種類與濃度兩者間無交感作用(表3)。整體來說，燈稱花種子用激勃素處理優於不用激勃素處理(表2, 3)。

表2 GA₃及GA₄處理對採自楊梅的燈稱花種子於20/10°C溫度下發芽之影響

Table 2 Effect of GA₃ and GA₄ on germination percentages (mean ± SE) of *Ilex asprella* seeds collected from Yang Mei at 20/10°C incubation

Treatments	Germination (%) ^y			
	8 wk	16 wk	24 wk	32 wk
ddH ₂ O (control)	0.0 ± 0.0 a	28.7 ± 16.2 c	46.7 ± 9.0 d	61.3 ± 2.5 c
25 μM GA ₃	0.0 ± 0.0 a	25.3 ± 4.2 c	56.0 ± 5.9 cd	70.0 ± 1.6 bc
250 μM GA ₃	0.0 ± 0.0 a	30.7 ± 11.0 c	66.0 ± 11.8 bc	71.3 ± 11.0 abc
2500 μM GA ₃	0.0 ± 0.0 a	52.0 ± 13.1 b	74.0 ± 5.9 ab	76.7 ± 5.7 ab
25 μM GA ₄	0.0 ± 0.0 a	54.7 ± 12.2 b	75.3 ± 4.1 ab	77.3 ± 4.1 ab
250 μM GA ₄	1.3 ± 2.3 a	52.7 ± 4.2 b	64.7 ± 1.9 ab	68.8 ± 4.9 bc
2500 μM GA ₄	0.7 ± 1.2 a	75.3 ± 4.2 a	82.7 ± 6.2 a	82.7 ± 6.2 a
Significance				
GA	NS	***	NS	NS
Concentration	NS	***	***	**
GA × Concentration	NS	NS	NS	NS

^yMeans ($n = 3, 100$ seeds/ n) with the same letter in a column do not differ significantly (LSD, $P = 0.05$).

註：每欄平均值(3重複數)有相同的英文字母表示差異不顯著(最小顯著差異，積率=0.05)。

NS $P > 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

機率 >0.05 表示差異不顯著，機率 <0.01 以下表示極顯著差異。



表3 GA₃及GA₄處理對採自來義的燈稱花種子於20/10°C溫度下發芽之影響

Table 3 Effect of GA₃ and GA₄ on germination percentages (mean ± SE) of *Ilex asprella* seeds collected from Lai Yi at 20/10°C incubation

Treatments	Germination (%) ^y			
	8 wk	16 wk	24 wk	32 wk
ddH ₂ O (control)	0 a	0.7 ± 1.2 c	30.7 ± 5.7 c	30.7 ± 5.7 c
25 μM GA ₃	0 a	12.0 ± 2.0 bc	50.0 ± 10.2 ab	52.0 ± 9.1 a
250 μM GA ₃	0 a	17.3 ± 10.1 abc	52.7 ± 6.6 a	53.3 ± 7.4 a
2500 μM GA ₃	0 a	22.0 ± 4.0 ab	46.7 ± 1.9 ab	47.3 ± 2.5 ab
25 μM GA ₄	0 a	18.7 ± 2.3 abc	40.0 ± 5.9 abc	40.7 ± 6.6 ab
250 μM GA ₄	0 a	26.0 ± 12.2 a	42.7 ± 4.1 ab	44.0 ± 3.3 abc
2500 μM GA ₄	0 a	24.7 ± 4.6 a	37.3 ± 4.7 bc	37.3 ± 4.7 bc
Significance				
GA	NS	NS	*	*
Concentration	NS	**	**	**
GA × Concentration	NS	NS	NS	NS

^yMeans ($n = 3$, 50 seeds / n) with the same letter in a column do not differ significantly (LSD, $P < 0.05$).

註：每欄平均值(3重複數)有相同的英文字母表示差異不顯著(最小顯著差異，積率=0.05)。

NS $P > 0.05$; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$

機率 >0.05 表示差異不顯著，機率 <0.01 以下表示極顯著差異。

IV、討論

(I) 溫度處理對種子發芽之影響

採集自楊梅、來義和陽明山三個地區燈稱花的種子，在不同溫度下處理52週後，發芽率和發芽速率皆以20/10°C最高，而陽明山種子在15/6°C下的效果也相當不錯(圖1A、B、C)，但三個地點的恆溫25°C處理皆幾乎不發芽，顯示燈稱花種子發芽需要較低的溫度，以20/10°C溫度最佳，能提高種子發芽率。

過去有關冬青屬種子的報告指出，該屬植物種子具有形態生理的休眠(morphophysiological dormancy)，因種子內有一小橢圓形胚，雖已分化但發育未完全，種子發芽時其胚必須在種子內生長，

直到胚根突出種皮，而且發芽時間超過30天(簡慶德、陳舜英，2011；Martin, 1946; Hu, 1975)。本研究觀察燈稱花種子胚發育生長，發現15/6°C處理的種子胚生長比25/15°C處理快，且當種子發芽之前，胚長度與種子長度比值提高(圖2)。由種子發芽試驗發現，15/6°C和20/10°C處理的種子較25/15°C處理快發芽(圖1)。本結論是種子發芽速度與其胚生長速度有關，胚在較低溫度(15/6°C、20/10°C)比在較高溫(30/20°C、35/10°C)生長快，因此發芽速度也快。前人研究指出冬青屬種子難以發芽，是因為種子中的胚還停留在心臟期或魚雷期(Hu, 1975; Ives, 1923; Niklas, 1987)，與本研究觀察到的結果類似。從圖3可看到種子中有一微小、橢圓形的胚，經過10週後15/6°C



處理的胚有明顯延長，且已分化出子葉， $25/15^{\circ}\text{C}$ 處理的胚大小則變化不大。本研究三個地點的燈稱花種子，在任何發芽溫度下均需12週以上才能發芽，藉由胚觀察亦可看到新鮮種子胚小發育不完全，因此種子具有形態生理的休眠。

影響種子發芽與休眠的因子，包含遺傳、生長環境及遺傳和生長環境相互的作用(Roach and Wulff, 1987；Meyer and Kitchen, 1994；Baskin and Baskin, 1998；Meyer and Pendleton, 2000)。不同地區採集的種子所需的發芽條件會不同。本研究採自楊梅及來義的燈稱花種子，發芽率分別以 $20/10$ 與 $25/15^{\circ}\text{C}$ 處理最高(圖1A、B)，或許因為這樣的溫度與其生長地點春天時的溫度類似。相較下陽明山的種子反而是以 $15/6^{\circ}\text{C}$ 處理的發芽率遠高於 $25/15^{\circ}\text{C}$ (圖1C)，此可能因為陽明山緯度與海拔較高，氣溫較楊梅、來義低，故陽明山的種子中的胚必須在較低溫的環境中才能發育。此與Chien等人(2011)的研究結果相似，即採集自北部的倒卵葉冬青(*Ilex maximowicziana*)種子在涼溫 $20/10^{\circ}\text{C}$ 下發芽率較高，但採自南部的種子在則是暖溫 25°C 及 $30/20^{\circ}\text{C}$ 處理有較高的發芽率。不同地點採集的種子其發芽適溫會有差異(Meyer et al., 1997)。本試驗採自陽明山的種子發芽率最高，可達90%，採自楊梅的種子發芽率則略低，約80%，採自來義的種子則約只有50%，無法再提高發芽率，即來義的種子品質較差，發芽率低(圖1B、表3)。統計結果顯示，採集地點與溫度對燈稱花種子發芽率都有顯著影響，且二者具有交互作用(表2)，因此應該根據採集地

點調整種子發芽溫度，才能成功提高種子發芽率。

綜合前述，本研究燈稱花種子發芽率及發芽速度，雖受到採集地點影響，但皆以 $20/10^{\circ}\text{C}$ 處理最快發芽且發芽率最高。

(II) 變溫組合層積處理對燈稱花種子發芽之影響

夏天週期(暖溫至低溫)和冬天週期(低溫至暖溫)處理的燈稱花種子，約在10週後開始發芽，且發芽溫度都在 $20/10^{\circ}\text{C}$ ，但冬天週期處理的發芽率成直線上升，而夏天週期則到第30週才開始大量發芽，且此時溫度落在 $15/6^{\circ}\text{C}$ ，顯示種子發芽溫度不可太高(圖4)。

對照前述種子在不同發芽溫度處理下之結果，採自楊梅的種子發芽速率快慢順序之溫度為 $20/10^{\circ}\text{C} > 15/6^{\circ}\text{C} > 25/15^{\circ}\text{C} > 35/10^{\circ}\text{C} > 30/20^{\circ}\text{C}$ (圖1)。夏天週期處理一開始的溫度為 $25/15^{\circ}\text{C}$ ，溫度高種子休眠未被完全打破，因此發芽率低，到第16週經由 5°C 處理4週後，接著在 $15/6^{\circ}\text{C}$ 的發芽適溫下才大量發芽。另外，冬天週期則是一開始先在冬天 5°C 低溫處理，於第4週後換到發芽適溫的 $15/6^{\circ}\text{C}$ 及 $20/10^{\circ}\text{C}$ 下，之後持續穩定發芽，似乎顯示種子需要冬天的低溫以打破休眠，於初春氣溫回升後開始發芽。冬青屬倒卵葉冬青種子具休眠性，經由4, 8, 12週 5°C 低溫層積的種子，皆較未經低溫處理者快發芽(Chien et al., 2011)。本研究冬天週期和夏天週期處理試驗結果可推測，燈稱花種子於秋冬落果後，需要冬天一段時間在林地上，待春天胚在種子內生長，休眠解除後才開始發芽。

燈稱花在亞熱帶的生長週期為春天開



花、夏天結果，果實於9-12月成熟(Tsang and Corlett, 2005)，種子須感應到初春的低溫與日夜溫差，其胚才能持續發育打破休眠，所以恆溫 25°C 和夏天高溫皆不利於種子發芽，或無法發芽或發芽率低。整體來說，冬天週期處理與夏天週期處理發芽時間差不多，發芽率也無顯著差異，但發芽速率隨溫度週期變化影響極大。

(III) 低溫 5°C 層積處理對燈稱花種子發芽效應

冬青屬種子發芽極慢，是因其胚具有休眠性(Hu, 1979；簡和陳，2011)。一般認為低溫層積可打破種子休眠並促進發芽，燈稱花種子低溫層積雖可改善種子發芽，但其發芽率仍受到層積後發芽溫度之影響($20/10^{\circ}\text{C} > 25/15^{\circ}\text{C} > 30/20^{\circ}\text{C}$) (圖5)，顯示胚在 5°C 溫度發育緩慢，需要有較高溫度刺激胚增大，即高低溫的配合，高溫 $> 15^{\circ}\text{C}$ ，而低溫 $\leq 10^{\circ}\text{C}$ 。Chien等人(2011)研究同屬的倒卵葉冬青種子，經由4、8、12週 5°C 低溫層積後，皆較未經低溫處理者較快發芽，但加總低溫層積時間和發芽所需時間，發現低溫層積處理並不能促進倒卵葉冬青種子的發芽。本研究結果也發現，燈稱花種子低溫層積時間長，發芽效果才會顯著，如果將低溫層積種子取出後放在高溫下發芽，發芽率仍低，低溫處理效果並不理想。

(IV) 激勃素GA₃和GA₄處理對新鮮燈稱花種子發芽之影響

外施GAs可克服裸子植物與被子植物種子生理休眠，促進發芽(Bewley and Black, 1994；Baskin and Baskin, 1998)。例如紅豆杉(*Taxus mairei*)種子用250 ppm

GA₃ ($\approx 721 \mu\text{M}$)處理的發芽率最高(Chien et al., 1998)；500 ppm GA₃ ($\approx 1443 \mu\text{M}$)可促進櫻桃(*Prunus avium*)種子發芽(Cetinbas and Koyuncu, 2006)；南歐紫荊(*Cercis siliquastrum*)種子則以1400 μM GA₃處理最能打破其休眠(Gebre and Karam, 2004)。激勃素GA₃和GA₄處理能促進燈稱花種子的發芽，有經GA處理的種子發芽速度與發芽率都比對照組高，然GA種類對燈稱花種子發芽率無顯著影響(表2, 3)，或許是因為GA₁、GA₃、GA₄、GA₇等都具活性，可縮短種子發芽時間(Baskin and Baskin, 1998)。

V、結論

本研究結果燈稱花種子最適發芽溫度為 $20/10^{\circ}\text{C}$ ，發芽率及發芽速率均同時受發芽溫度及採集地點之影響。變溫組合層積處理試驗得知，種子在較低溫度下較容易發芽。低溫 5°C 層積雖可加速燈稱花種子發芽，但仍須配合發芽溫度，若發芽溫度過高如 $30/20^{\circ}\text{C}$ ，層積效果不佳。 $25-2500 \mu\text{M}$ GA₃與GA₄皆可促進燈稱花種子發芽。

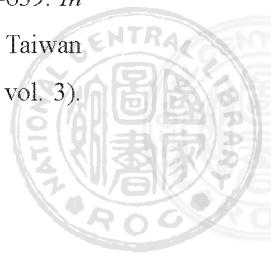
VI、致謝

本研究承林業試驗所科技計畫99農科-8.1.2-森-G1與國科會專題研究計畫(NSC97-2313-B-054-003-MY3)經費補助。作者感謝陳祖謙、許文瑜、張晏瑋、葉政佑、吳濟琛在實驗工作上的協助。



VII、引用文獻

- 簡慶德、陳舜英 (2011) 台灣冬青屬植物種子的形態生理休眠。林業試驗所林業叢刊第231號。
- APG III (The Angiosperm Phylogeny Group) (2009) An update of the Angiosperm Phylogeny Group for the order and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105-121.
- Bewley, J.D. and M. Black (1994) Seeds: physiology of development and germination. 2nd edn. New York and London: Plenum Press.
- Baskin, C.C. and J.M. Baskin. (1998) Seeds: ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination. Academic press.
- Baskin, J.M. and C.C. Baskin (2004) A classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14: 1-16.
- Çetinbaş, M. and F. Koyuncu (2006) Improving germination of *Prunus avium* L. seeds by gibberellic acid, potassium nitrate and thiourea. *Horticultural Science* 33: 119-123.
- Chien, C.T., S.Y. Chen, T.Y. Chien, J.M. Baskin and C.C. Baskin (2011) Nondeep simple morphophysiological dormancy in seeds of *Ilex maximowicziana* from northern (subtropical) and southern (tropical) Taiwan. *Ecological Research* 26: 163-171.
- Chien, C.T., L.L. Kuo-Huang and T.P. Lin (1998) Changes in ultrastructure and abscisic acid level, and response to applied gibberellins in *Taxus mairei* seeds treated with warm and cold stratification. *Annals of Botany* 81: 41-47.
- Gebre, G.H. and N.S. Karam (2004) Germination of *Cercis siliquastrum* seeds in response to gibberellic acid and stratification. *Seed Science and Technology* 32: 255-260.
- Hu, C.Y. (1975) In vitro culture of rudimentary embryos of eleven *Ilex species*. *Journal of the America Society for Horticultural Science* 100: 221-225.
- Hu, C.Y., F. Rogalski and C. Ward (1979) Factors maintaining *Ilex* rudimentary embryos in the quiescent state and the ultrastructural changes during in vitro activation. *Botanical Gazette* 140: 272-279.
- Ives, S.A. (1923) Maturation and germination of seeds of *Ilex opaca*. *Botanical Gazette* 76: 60-77.
- Kashiwada, Y. and D.C. Zhang (1993) Antitumor agents, 145. cytotoxic asprellie acids A and C and asprellie acid B, new p-coumaroyl triterpenes, from *Ilex asprella*. *Journal of Natural Products* 56: 2077-2082.
- Li, Y., L.S Ooi, H. Wang, P.P. But and V.E. Ooi (2004) Antiviral activities of medicinal herbs traditionally used in southern mainland China. *Phytotherapy Research* 18: 718-722.
- Lu, S.Y. (1993) Aquifoliaceae. pp.621-639. In Editorial Committee of the Flora of Taiwan (Ed.) *Flora of Taiwan* (2nd edition, vol. 3).



- Taiwan, Editorial Committee of the Flora of Taiwan. 1084pp.
- Mabberley, D.J. (2008) *Mabberley's plant-book. A portable dictionary of plants, their classification and uses* (3rd edition). Cambridge, Cambridge University Press.
- Martin, A.C. (1946) The comparative internal morphology of seeds. *The American Midland Naturalist* 36: 513-660.
- Meyer, S.E. and S.G. Kitchen (1994) Habitat-correlated variation in seed germination response to chilling in *Penstemon section Glabri* (*Scrophulariaceae*). *American Midland Naturalist* 132: 349-365.
- Meyer, S.E. and R.L. Pendleton (2000) Genetic regulation of seed dormancy in *Purshia tridentata* (*Rosaceae*). *Annals of Botany* 85: 521-529.
- Meyer, C.R., J.L. Boes, B. Kim, P.H. Bland, K.R. Zasadny, P.V. Kison and R.L. Wahl (1997) Demonstration of accuracy and clinical versatility of mutual information for automatic multimodality image fusion using affine and thin-plate spline warped geometric deformations. *Medical Image Analysis* 13: 195-206.
- Muller, J. (1981) Fossil pollen records of extant angiosperms. *The Botanical Review* 47 (1): 1-142.
- Niklas, C.O. (1987) Estudios embrioló'gicos y citolo'gicos en la yerba mate *Ilex paraguariensis* (Aquiñoliaceae). *Bonplandia* 6: 45-56.
- Roach, D.A. and R.D. Wulff (1987) Maternal effects in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 209-235.
- Tsang, A.C.W. and R.T. Corlett (2005) Reproductive biology of the *Ilex* species (*Aquiñoliaceae*) in Hong Kong China. *China Botany* 83: 1645-1654.

